

SPECULUM

Geburtshilfe / Frauen-Heilkunde / Strahlen-Heilkunde / Forschung / Konsequenzen

Schmid M

**Klinische Anwendung von Microarrays („Genchips“)
in der Pränataldiagnostik**

*Speculum - Zeitschrift für Gynäkologie und Geburtshilfe 2013; 31 (3)
(Ausgabe für Österreich), 18-21*

*Speculum - Zeitschrift für Gynäkologie und Geburtshilfe 2013; 31 (3)
(Ausgabe für Schweiz), 20-23*

Homepage:

www.kup.at/speculum

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**



Science For A Better Life

Klinische Anwendung von Microarrays („Genchips“) in der Pränataldiagnostik

M. Schmid

In den vergangenen Jahren haben sich die Methoden der genetischen Analyse rasant weiterentwickelt. Auch vor der Pränataldiagnostik macht dieser Fortschritt nicht halt. Microarray- („Genchip“-) basierte Verfahren werden auch hier immer häufiger zur genetischen Diagnostik in der klinischen Praxis eingesetzt. Ihre Fähigkeit, submikroskopische Veränderungen im Erbgut zu erkennen, führt zu einer höheren Detektionsrate von Chromosomenaberrationen im Vergleich zur herkömmlichen Karyotypisierung. Die besondere Herausforderung dabei liegt in der Möglichkeit der Aufdeckung genetischer Veränderungen unklarer Bedeutung sowie in der Aufdeckung von Zufallsbefunden, die nicht das eigentliche Ziel der Untersuchung waren. Trotzdem wird erwartet, dass Microarrays die konventionellen zytogenetischen Verfahren in der Pränataldiagnostik in naher Zukunft ablösen.

Hintergrund

Seit den 1970er-Jahren ist die Karyotypisierung, bei der die fetalen Chromosomen nach Behandlung mit Trypsin und dem Farbstoff Giemsa (GTG-Färbung) mikroskopisch untersucht werden, das Standardverfahren in der pränatalen genetischen Diagnostik. Chromosomenaberrationen werden dabei jedoch nur oberhalb einer bestimmten Größe (ca. 4–5 Millionen Basenpaare) erkannt. Viele krankheitsverursachende Veränderungen liegen in ihrer Ausdehnung aber unterhalb dieser Auflösungsgrenze. Solche Mikrodeletionen und Mikroduplikationen sind häufig Ursache für syndromale Erkrankungen, die mit Fehlbildungen und/oder mentaler Retardierung einhergehen können. Die Chromosomen-Microarray-Analyse (CMA), auch molekulare Karyotypisierung genannt, ermöglicht es, solche submikroskopischen Veränderungen zu erkennen.

Methode

Das Prinzip der CMA beruht auf einer Hybridisierung farblich markierter DNA an ein Raster von immobilisierten DNA-Frag-

menten, die bestimmten chromosomalen Regionen im Genom entsprechen. Patienten- und Referenz-DNA werden unterschiedlich markiert und gemeinsam auf den Microarray („Genchip“) hybridisiert. Das Verhältnis der Fluoreszenzintensitäten jeder einzelnen Sonde gibt Aufschluss über die Kopienzahl der entsprechenden DNA-Abschnitte. Abweichungen von der Norm („copy number variations“ [CNVs]) können so erkannt werden. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgt mittels einer speziellen Software, die es erlaubt, genaue Angaben über den Zugewinn oder Verlust von Erbmaterial zu machen. Bei der Auswertung und Interpretation der Daten hinsichtlich der klinischen Relevanz spielt die Datenbankenrecherche eine große Rolle. Es entfallen bei der CMA insgesamt viele technische Nachteile der klassischen Karyotypisierung, wie zum Beispiel die Notwendigkeit einer Zellkultur und die sich daraus ergebende Zeitverzögerung von 10–14 Tagen zwischen Probenahme und Ergebnis.

Erfahrungen in der Pädiatrie

In der postnatalen Diagnostik wird die CMA schon seit mehreren Jahren erfolgreich

eingesetzt. Vor allem in der Pädiatrie hat sie die Detektionsrate von Chromosomenaberrationen deutlich verbessert. Daher wird in Kindern mit Entwicklungsverzögerung bzw. geistiger Behinderung unklarer Genese sowie Autismus-Spektrum-Störungen oder multiplen kongenitalen Anomalien der Einsatz der CMA als „First-line“-Diagnostik schon seit einiger Zeit empfohlen [1]. Dabei wurden zusätzliche Detektionsraten zwischen 11 und 15 % beobachtet [2, 3]. Im Vergleich zur postnatalen Anwendung existierten jedoch lange Zeit wenig prospektive Daten im Bereich der pränatalen genetischen Diagnostik.

Anwendung in der Pränataldiagnostik

In rezenten Studien konnte nun auch für die Pränataldiagnostik gezeigt werden, dass mittels CMA die Detektionsrate krankheitsrelevanter Chromosomenaberrationen im Vergleich zu herkömmlichen zytogenetischen Verfahren wesentlich verbessert werden kann. Wegweisend für den Einsatz der CMA in der Pränataldiagnostik ist vor allem eine prospektive Studie, die am Columbia University Medical Center in New York und 28 weiteren US-Zentren über 5 Jahre durchgeführt worden ist. Im Rahmen dieser verblindeten Studie wurden die Ergebnisse von CMA und Karyotypisierung an 4406 Proben aus Amniozentese oder Chorionzottenbiopsie verglichen. Die Schwangeren hatten sich zuvor aufgrund eines erhöhten maternalen Alters (46,6 %), eines auffälligen Ersttrimester-Screenings (18,8 %), Auffälligkeiten im Ultraschall (25,2 %) und anderen Indikationen (9,4 %) für eine pränatale genetische Diagnostik entschieden. Wie Ronald Wapner et al. im *New England Journal of Medicine* berichten, war die CMA in 98,8 % der Fälle technisch erfolgreich [4]. 87,9 % der Proben konnten ohne Gewebekultur, also besonders rasch, analysiert werden. Alle Aneuploidien und unbalancierten Translokationen wurden mittels CMA erkannt. Es konnte darüber hinaus eine höhere Detektionsrate krankheitsrelevanter Chromosomenaberrationen nachgewiesen werden. In Fällen, wo eine Auffälligkeit im Ultraschall vorlag (z. B. Fehlbildungen), wurde eine zusätzliche Detektionsrate von 6 % beschrieben. Bei sonstigen Indikationen (z. B. auffälliges Ersttrimester-Screening) lag die zusätzliche Detektionsrate bei 1,7 %. Dadurch wurden die Ergebnisse vorangegangener Metaanalysen von kleineren, meist

retrospektiven Studien im Wesentlichen bestätigt. Die Italienische Gesellschaft für Humangenetik (SIGU) hat zum Beispiel in ihrem Konsensus-Statement zur CMA bereits 2011 eine zusätzliche Detektionsrate von 6,4 % bei Feten mit Auffälligkeit im Ultraschall aus den bis dato publizierten Studien erhoben [5]. Diese Arbeitsgruppe stellte fest, dass in dieser Population durch die CMA die Detektionsrate klinisch relevanter Chromosomenaberrationen im Vergleich zur herkömmlichen Karyotypisierung von 20 % auf 26,4 % gesteigert werden konnte. Insgesamt scheint sich aus den vorliegenden Daten auch abzuleiten, dass eine CMA umso eher eine zusätzliche Chromosomenaberration aufdeckt, je schwerwiegender die Auffälligkeit im Ultraschall bzw. die Fehlbildung ist. Hier ist auch zu erwähnen, dass außerdem eine erhöhte Nackentransparenz eine Indikation für eine CMA darstellt. Bei einer Nackentransparenz > 3,5 mm (d. h. > 99. Perzentile) wurde eine zusätzliche Detektionsrate klinisch signifikanter Chromosomenaberrationen von bis zu 8,3 % beschrieben [6].

Herausforderungen in der Pränataldiagnostik

Technische Nachteile der CMA wurden in den bis dato publizierten Studien vor allem im Bereich der unzureichenden Diagnose von balancierten Translokationen, niedriggradigen Mosaiken und der Triploidie gefunden. Dass die CMA noch nicht uneingeschränkt als „First-line“-Diagnostik empfohlen wird, hat aber einen anderen Grund. Aufgrund der hohen Auflösung hat die neue Methode das Potenzial, Mikrodeletionen und Mikroduplikationen aufzudecken, deren klinische Bedeutung derzeit nicht klar ist. Diese „variations of uncertain significance“ (VOUS) wurden in der Studie von Wapner et al. im Rahmen einer Zwischenauswertung primär bei 3,4 % aller Untersuchungen gefunden. Nach Abschluss der Studie und Evaluierung durch ein „Clinical Advisory Committee“ fielen jedoch nur noch 1,5 % in diese Kategorie. Dies ist vor allem durch den raschen Zugewinn von klinisch genetischer Information zu erklären. Es konnte also innerhalb der Studiendauer geklärt werden, inwieweit mehr als die Hälfte der initial gefundenen VOUS das Potenzial hat, Fehlbildungen oder schwere Entwicklungsstörungen zu verursachen. Folglich ist davon auszugehen, dass mit wachsender Erfahrung auch dieses diagnostische Di-

lemma immer kleiner wird. Trotzdem ist nicht außer Acht zu lassen, dass die Beratung von Schwangeren bei Vorliegen einer VOUS immer schwierig sein wird. Obwohl der Einsatz von CMA, wie bereits erwähnt, als „First-line“-Diagnostik von den meisten Fachgesellschaften noch nicht empfohlen wird, scheint die Sinnhaftigkeit dieser neuen Methode bei Feten mit Fehlbildungen bzw. Nackentransparenz > 3,5 mm und unauffälligem Karyogramm unumstritten (Abb. 1). Auch bei intrauteriner Wachstumsretardierung und intrauterinem Fruchttod unklarer Ursache sollte eine CMA überlegt werden.

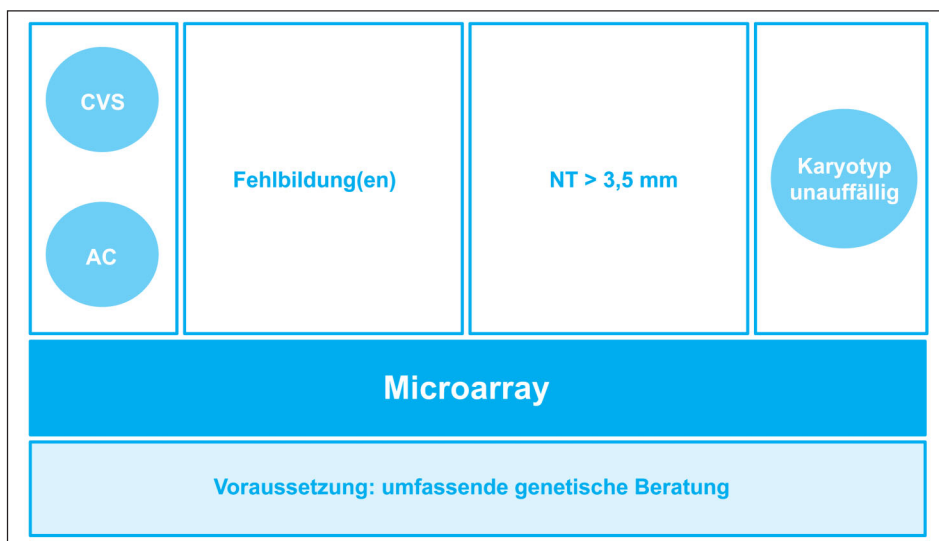
Beratung

Die Möglichkeit der Aufdeckung von VOUS im Rahmen einer CMA unterstreicht vor allem eines: die Wichtigkeit der Einhaltung der gesetzlichen Vorgaben in Bezug auf eine adäquate Beratung vor und nach einer pränatalen genetischen Analyse. An dieser Stelle wird auch auf das Konsensus-Statement „Pränatale genetische Analyse mittels Microarray“ verwiesen, das bereits 2010 in *Speculum* veröffentlicht wurde [7]. Wie dort betont, sollte eine solche Aufklärung durch einen nachweislich geschulten Facharzt für medizinische Genetik oder einen für das Indikationsgebiet zuständigen Facharzt mit Zusatzqualifikation in diesem Bereich erfolgen. Dabei ist insbesondere auf diagnostische Möglichkeiten und Grenzen

der Methode (Auflösung), die Möglichkeit der Generierung von „Zufallsbefunden“ sowie die Möglichkeit der Aufdeckung genetischer Veränderungen unklarer Bedeutung hinzuweisen. Dies ist vor allem auch wichtig, weil in Zukunft die „Barriere“ Amniozentese oder Chorionzottenbiopsie für die Diagnose von Mikrodeletionen und Mikroduplikationen fallen dürfte. Durch die Analyse zellfreier fetaler DNA aus dem mütterlichen Blut können diese schon bald auch ohne Eingriffsrisiko und CMA diagnostiziert werden [8].

Schlussfolgerung

Obwohl die Karyotypisierung seit mehr als 40 Jahren als Goldstandard für die Beurteilung des fetalen Erbgutes gilt, wird diese in naher Zukunft durch die CMA abgelöst werden. „Genchips“ ermöglichen eine völlig neue Dimension in der pränatalen genetischen Diagnostik. In rezenten prospektiven Studien konnte gezeigt werden, dass die Detektionsrate von Chromosomenaberrationen durch den Einsatz der CMA in der Pränataldiagnostik signifikant gesteigert werden kann. Insbesondere bei Feten mit Auffälligkeiten im Ultraschall und normalem Karyotyp wird die Durchführung einer CMA daher empfohlen. Da diese Form der pränatalen genetischen Analyse jedoch auch Veränderungen unsicherer klinischer Signifikanz erkennen kann, ist eine umfassende genetische Beratung unbedingt erforderlich.



1. Empfehlung zur klinischen Anwendung der Chromosomen-Microarray-Analyse in der Pränataldiagnostik. **CVS:** Chorionzottenbiopsie; **AC:** Amniozentese; **NT:** Nackentransparenz.

LITERATUR:

1. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet* 2010; 86: 749–64.
2. Friedman JM, Baross A, Delaney AD, et al. Oligonucleotide microarray analysis of genomic imbalance in children with mental retardation. *Am J Hum Genet* 2006; 79: 500–13.
3. Fan YS, Jayakar P, Zhu H, et al. Detection of pathogenic gene copy number variations in patients with mental retardation by genomewide oligonucleotide array comparative genomic hybridization. *Hum Mutat* 2007; 28: 1124–32.
4. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012; 367: 2175–84.
5. Novelli A, Grati FR, Ballarati L, et al. Microarray application in prenatal diagnosis: a position statement from the cytogenetics working group of the Italian Society of Human Genetics (SIGU), November 2011. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012; 39: 384–8.
6. Leung TY, Vogel I, Lau TK, et al. Identification of submicroscopic chromosomal aberrations in fetuses with increased nuchal translucency and apparently normal karyotype. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; 38: 314–9.
7. Konsensus-Statement: Pränatale genetische Analyse mittels Microarray. *Speculum* 2010; 28 (3): 16–9.
8. Peters D, Chu T, Yatsenko SA, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of a fetal microdeletion syndrome. *N Engl J Med* 2011; 365: 1847–8.

Korrespondenzadresse:

Ass.-Prof. Priv.-Doz.

Dr. Maximilian Schmid

Abteilung für Geburtshilfe und

feto-maternale Medizin

Universitätsklinik für Frauenheilkunde

Medizinische Universität Wien

A-1090 Wien, Währinger Gürtel 18–20

E-Mail:

maximilian.schmid@meduniwien.ac.at

NEUES AUS DEM VERLAG

Abo-Aktion zum Kennenlernen

Wenn Sie Arzt sind, in Ausbildung zu einem ärztlichen Beruf, oder im Gesundheitsbereich tätig, haben Sie die Möglichkeit, die elektronische Ausgabe dieser Zeitschrift kostenlos zu beziehen.

Die Lieferung umfasst 4–6 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte. Das e-Journal steht als PDF-Datei (ca. 5–10 MB) zur Verfügung und ist auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

➔ **Bestellung kostenloses e-Journal-Abo**

Besuchen Sie unsere **zeitschriftenübergreifende Datenbank** mit zahlreichen Artikeln, Fallberichten und Abbildungen – teilweise durch Videoclips unterstützt!

➔ **Bilddatenbank**

➔ **Artikeldatenbank**

➔ **Fallberichte**

Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

Wir stellen vor:



Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

Offizielles Organ: – Arbeitsgemeinschaft Reproduktionsbiologie des Menschen (AGRBM); – Berufsverband der Reproduktionsmedizinischen Zentren Deutschlands (BRZ); – Dachverband Reproduktionsbiologie und -medizin (DVR); – Dt. Gesellschaft für Andrologie (DGA); – Dt. Gesellschaft für Gynäkologische Endokrinologie und Fortpflanzungsmedizin (DGGEF); – Dt. Gesellschaft für Reproduktionsmedizin (DGRM); – Deutsches IVF-Register (DIR); – Embryologenforum Austria (EFA); – Österr. Gesellschaft für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie (OEGRM); – Sektion Reproduktionsbiologie und -medizin der Dt. Gesellschaft für Endokrinologie (SRBM/DGE)

Homepage: <http://www.kup.at/reproduktionsmedizin>